

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2002-510496

(P2002-510496A)

(43)公表日 平成14年4月9日 (2002.4.9)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-71-1 (参考)
C 12 N 15/09	Z NA	A 6 1 K 39/21	4 B 0 2 4
A 6 1 K 39/21		39/39	4 C 0 8 5
39/39		A 6 1 P 31/18	4 H 0 4 5
A 6 1 P 31/18		C 0 7 K 7/00	
C 0 7 K 7/00		14/16	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 43 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2000-542462(P2000-542462)
(86) (22)出願日	平成11年4月1日(1999.4.1)
(85)翻訳文提出日	平成12年10月3日(2000.10.3)
(86)国際出願番号	P C T / E P 9 9 / 0 2 2 4 9
(87)国際公開番号	W O 9 9 / 5 1 7 5 0
(87)国際公開日	平成11年10月14日(1999.10.14)
(31)優先権主張番号	1 9 8 1 4 9 2 5 . 5
(32)優先日	平成10年4月3日(1998.4.3)
(33)優先権主張国	ドイツ (D E)

(71)出願人	グラクソ グループ リミテッド GLAXO GROUP LIMITED イギリス ミドルセックス ユーピー6 0エヌエヌ グリーンフォード パークレー ー アベニュー グラクソ ウエルカム ハウス (番地なし)
(71)出願人	トーマス、ハラー THOMAS HARRER ドイツ連邦共和国エアランゲン、シュタイ ンネック、9
(74)代理人	弁理士 佐藤 一雄 (外3名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 細胞傷害性T細胞を誘導するための医薬

(57)【要約】

本発明は配列X1-Y-X2-D-D-X3を有するアミノ酸またはこのアミノ酸をコードする核酸を含有する化合物に関する【ここで、X1は選択される少なくとも1個のアミノ酸であり、Yはチロシンであり、X2はパリン、イソロイシンおよびロイシンからなる群より選択される1個のアミノ酸であり、Dはアスパラギン酸であり、かつ、X3は少なくとも1個のその他の選択アミノ酸である(ただし、以下のアミノ酸: T L V L Q Y V D D L L L および I L V L Q Y V D D L L L (式中、Tはトレオニンであり、Vはパリンであり、Iはイソロイシンであり、Lはロイシンであり、かつ、Qはグルタミンである)は除く)】。本発明はまた、細胞傷害性T細胞を誘導し、このクラスの化合物を含有する医薬に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記配列を有するアミノ酸または該アミノ酸をコードする核酸を含んでなるか、またはそれからなる、化合物。

X 1 - Y - X 2 - D - D - X 3

[前記配列中、

X 1 = 少なくとも 1 個のいずれかのアミノ酸

Y = チロシン

X 2 = バリン、イソロイシンおよびロイシンからなる群より選択される 1 個のアミノ酸

D = アスパラギン酸、および

X 3 = 少なくとも 1 個のいずれかの付加的アミノ酸、である

(ただし、以下のアミノ酸配列：L R V E Y L D D R、T L V L Q Y V D D L
L L および I L V L Q Y V D D L L L (式中、T = トレオニン、V = バリン、I = イソロイシン、L = ロイシン、Q = グルタミン、および R = アルギニンである) を除く)]。

【請求項 2】

アミノ酸配列が 9 個のアミノ酸からなる、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 3】

X 1 が 4 または 5 個のアミノ酸からなる配列である、請求項 1 および 2 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 4】

X 3 が 1 または 2 個の付加的アミノ酸からなる配列である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 5】

アミノ酸配列がペプチドの一成分である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 6】

アミノ酸配列がタンパク質の一成分である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記

載の化合物。

【請求項 7】

ペプチドまたはタンパク質が、リボペプチドまたはリボタンパク質、好ましくはトリパルミトイール-S-グリセリルシスティニルセリルセリンと結合している、請求項 5 または 6 に記載の化合物。

【請求項 8】

ペプチドまたはタンパク質がリポソームまたは I S C O M 内に含まれている、請求項 5 ~ 7 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 9】

ペプチドまたはタンパク質がウイルスタンパク質と結合している、請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 10】

ペプチドが、H I V ウイルス様粒子、H I V g a g 粒子、またはH B s 抗原からなる群より選択される、請求項 5 ~ 9 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 11】

ペプチドが、可溶性ペプチド-H L A 複合体として、好ましくはH L A - A 2 四量体として、存在する、請求項 5 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 12】

ペプチドがリポソームと結合した可溶性ペプチド-H L A 複合体として存在する、請求項 5 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 13】

ペプチドが抗原提示細胞、好ましくは樹状細胞、マクロファージ、B 細胞、またはC D 4 + T 細胞、の一成分である、請求項 5 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 14】

アミノ酸配列が以下のアミノ酸配列から選択される、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の化合物。

I V I Y Q Y V D D L (配列番号 1) 、 I V I C Q Y V D D L (配列番号 2) 、

I V I Y Q Y I D D L (配列番号 3) 、 I V I C Q Y I D D L (配列番号 4) 、

ITIYQYVDDL (配列番号 5) 、 ITICQYVDDL (配列番号 6) 、
 ITIYQYIDDL (配列番号 7) 、 ITICQYIDDL (配列番号 8) 、
 IIIYQYVDDL (配列番号 9) 、 IIICQYVDDL (配列番号 10) 、
 IIIYQYIDDL (配列番号 11) 、 IIICQYIDDL (配列番号 12) 、
 MVIYQYVDDL (配列番号 13) 、 MVICQYVDDL (配列番号 14) 、
 MVIYQYIDDL (配列番号 15) 、 MVICQYIDDL (配列番号 16) 、
 VIYQYVDDL (配列番号 17) 、 VICQYVDDL (配列番号 18) 、
 VIYQYIDDL (配列番号 19) 、 VICQYIDDL (配列番号 20) 、
 LIYQYVDDL (配列番号 21) 、 LICQYVDDL (配列番号 22) 、
 LIYQYIDDL (配列番号 23) 、 LICQYIDDL (配列番号 24) 、
 TILQYVDDILL (配列番号 25) 、 TICQYVDDILL (配列番号 26) 、
 ILQYVDDIL (配列番号 27) 、 ILQYIDDIL (配列番号 28) 、
 TIVQYVDDILL (配列番号 29) 、 TIVQYIDDILL (配列番号 30) 、
 IVQYIDDIL (配列番号 31) 、 IVQYIDDIL (配列番号 32) 、
 ILVQYVDDIL (配列番号 33) 、 ILVQYIDDIL (配列番号 34) 、
 IIIQYVDDIL (配列番号 35) 、 IIIQYIDDIL (配列番号 36) 、
 ILIQYVDDIL (配列番号 37) 、 ILIQYIDDIL (配列番号 38) 、
 VLYQYVDDL (配列番号 39) 、 VLCQYVDDL (配列番号 40) 、
 VLYQYIDDL (配列番号 41) 、 VLCQYIDDL (配列番号 42) 、
 (ここで、 C = システイン、 D = アスパラギン酸、 I = イソロイシン、 L = ロイシン、 M = メチオニン、 および Q = グルタミンである) 。

【請求項 15】

核酸配列が D N A または R N A 配列である、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 16】

核酸配列がプラスミドまたはウイルスベクター、好ましくは組換えワクシニアウイルス、アデノウイルス、またはレトロウイルスベクター、の一成分である、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 17】

核酸配列が細菌ベクター、好ましくは組換えB C G またはサルモネラベクター、の一成分である、請求項1～16のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項18】

核酸配列が不活性化ウイルス、好ましくは不活性化H I Vウイルス、の一成分である、請求項1～17のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項19】

請求項1～18のいずれか一項に記載の化合物を有効成分として含んでなる、医薬。

【請求項20】

ワクチン形態である、請求項19記載の医薬。

【請求項21】

多価ワクチンを含んでなる、請求項20記載の医薬。

【請求項22】

1種以上のサイトカインをアジュバントとして含んでなる、請求項19～21のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項23】

インターロイキン-2および／またはG M-C S Fをアジュバントとして含んでなる、請求項19～22のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項24】

ウイルス、好ましくは変異型H I V、H I V-1、H I V-2、H T L V-I およびH T L V-IIウイルス、もしくは変異型B型肝炎ウイルスによる感染、または細胞傷害性T細胞の誘導に応答する疾病、の予防または治療法であって、

下記配列のペプチドまたは該ペプチドをコードする核酸を含んでなる医薬の有効量を患者に投与することからなる方法。

X 1 - Y - X 2 - D - D - X 3

(前記配列中、

X 1 = 少なくとも1個のいずれかのアミノ酸、

Y = チロシン、

X 2 = パリン (V)、イソロイシン (I) およびロイシン (L) からなる群

より選択される 1 個のアミノ酸、

D = アスパラギン酸、および

X 3 = 少なくとも 1 個のいずれかの付加的アミノ酸)。

【請求項 2 5】

変異型ウイルスが逆転写酵素阻害剤耐性である、請求項 2 4 記載の方法。

【請求項 2 6】

変異型ウイルスが、(-) - 2' , 3' - ジデオキシ - 3' - チアシチジン [= 3 T C (ラミブジン)] 、(-) - (1 S , 4 R) - 4 - [2 - アミノ - 6 - (シクロプロピルアミノ) - 9 H - プリン - 9 - イル] - 2 - シクロペンテン - 1 - メタノール [アバカビル] 、2' , 3' - ジデオキシイノシン [ジダノシン] 、2' , 3' - ジデオキシシチジン [ザルシタビン] 、(-) - 2' - デオキシ - 5 - フルオロ - 3' - チアシチジン [= F T C] 、に対して耐性である、請求項 2 4 または 2 5 記載の方法。

【請求項 2 7】

ウイルス、好ましくは変異型 H I V 、 H I V - 1 、 H I V - 2 、 H T L V - I および H T L V - II ウイルス、もしくは変異型 B 型肝炎ウイルスによる感染、または細胞傷害性 T 細胞の誘導に応答する疾病、の予防または治療用医薬の製造のための、下記アミノ酸配列または該ペプチドをコードする核酸の使用。

X 1 - Y - X 2 - D - D - X 3

(前記配列中、

X 1 = 少なくとも 1 個のいずれかのアミノ酸、

Y = チロシン (T) 、

X 2 = バリン (V) 、イソロイシン (I) およびロイシン (L) からなる群より選択される 1 個のアミノ酸、

D = アスパラギン酸、および

X 3 = 少なくとも 1 個のいずれかの付加的アミノ酸)。

【請求項 2 8】

変異型ウイルスが逆転写酵素阻害剤耐性である、請求項 2 7 記載の使用。

【請求項 2 9】

変異型ウイルスが、(-) - 2' , 3' - ジデオキシ-3' - チアシチジン [= 3 T C (ラミブジン)] 、(-) - (1 S , 4 R) - 4 - [2 - アミノ - 6 - (シクロプロビルアミノ) - 9 H - プリン - 9 - イル] - 2 - シクロペンテン - 1 - メタノール [アバカビル] 、2' , 3' - ジデオキシノシン [ジダノシン] 、2' , 3' - ジデオキシチジン [ザルシタシン] 、(-) - 2' - デオキシ - 5 - フルオロ - 3' - チアシチジン [= F T C] 、に対して耐性である、請求項27または28記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の背景】

発明の分野

本発明は細胞傷害性T細胞を誘導するための化合物または医薬に関する。さらに本発明はHIV-1、HIV-2、HTLV-I、HTLV-IIのようなレトロウイルスに対するワクチン、ならびにB型肝炎のようなウイルスに対するワクチンに関する。

【0002】

背景技術

ある医薬による治療により細胞傷害性T細胞（CTL）が誘導され得ることが先行技術から知られている。特に、細胞傷害性T細胞はとりわけウイルス感染細胞を排除する。

【0003】

HIV感染の治療では、ウイルス酵素逆転写酵素阻害剤が使用される。臨床上使用される1つの重要な逆転写酵素阻害剤としては、医薬3TCがある（これは(-)2'-デオキシ-3'-チアシチジンまたはラミブジンである）。しかしながらHIVは逆転写酵素のコドン194におけるメチオニンからイソロイシンまたはバリンへの変異によりこの医薬に対して耐性となる(PNAS 1993; 90: 5653-6)。また同変異によって1592U89（アバカビル）、ザルシタビン（DDC）、ジダノシン（DDI）、および2'-デオキシ-5-フルオロ-3'-チアシチジン（FTC）のような他の逆転写酵素阻害剤耐性ともなる。また他のウイルスはHIV逆転写酵素のような活性触媒中心に配列YMDDを含む逆転写酵素または類似のDNAポリメラーゼも有している。また、B型肝炎DNAポリメラーゼのYMDD配列におけるメチオニンからバリンへの同変異は、B型肝炎ウイルスの3TC（B型肝炎ウイルスと闘わせるために使用する医薬）耐性を誘導する。

【0004】

後に公開された出願WO98/23755から、多発性硬化症の治療のための

以下のアミノ酸配列が知られている。

T L V L Q Y V D D L L L および I L V L Q Y V D D L L L (前記配列中、T = トレオニン、V = バリン、I = イソロイシン、L = ロイシン、およびQ = グルタミンである)

【 0 0 0 5 】

【発明の概要】

本発明の目的は、ウイルス感染、特にH I VまたはB型肝炎感染の進行を効果的に妨げるか、または積極的に影響を与えるのに使用され得る医薬の入手を可能にすることである。この医薬は感染の予防（例えば予防ワクチンなど）および既に確立された感染の治療の双方に適すべきである。

【 0 0 0 6 】

本発明の目的は請求項1の特徴により達成される。本発明の有用な具体例は、請求項2～29の特徴によるものである。

【 0 0 0 7 】

本発明によれば、細胞傷害性T細胞の誘導のために以下の配列を有するアミノ酸またはこのアミノ酸をコードする核酸を含む、またはそれからなる化合物または医薬：

X 1 - Y - X 2 - D - D - X 3

[前記配列中、X 1 = 少なくとも1個のいずれかのアミノ酸、

Y = チロシン、

X 2 = バリン、イソロイシンおよびロイシンからなる群より選択される1個のアミノ酸、

D = アスパラギン酸、および

X 3 = 少なくとも1個のいずれかの付加的アミノ酸、である

(ただし、以下のアミノ酸配列：L R V E Y L D D R、T L V L Q Y V D D L L L および I L V L Q Y V D D L L L (式中、T = トレオニン、V = バリン、I = イソロイシン、L = ロイシン、Q = グルタミン、およびR = アルギニンである) は除く)] ;

ならびに、ウイルス、好ましくは変異型H I V、H I V-1、H I V-2、H

T L V - I もしくは H T L V - II ウィルス、または変異型 B 型肝炎ウィルスによる感染、または細胞傷害性 T 細胞の誘導に応答した疾病の予防または治療法であって、下記の配列を有するアミノ酸またはかかるアミノ酸をコードする核酸を含んでなる医薬の有効量を投与することからなる方法：

X 1 - Y - X 2 - D - D - X 3

(前記配列中、

X 1 = 少なくとも 1 個のいずれかのアミノ酸、

Y = チロシン、

X 2 = バリン (V) 、イソロイシン (I) およびロイシン (L) からなる群より選択される 1 個のアミノ酸、

D = アスパラギン酸、および

X 3 = 少なくとも 1 個のいずれかの付加的アミノ酸) ；

および／または、ウィルス感染、好ましくは変異型 H I V 、 H I V - 1 、 H I V - 2 、 H T L V - I 、 H T L V - II 、または変異型 B 型肝炎感染、または細胞傷害性 T 細胞の誘導に応答した疾病、の予防または治療用医薬の製造のための、下記のアミノ酸またはかかるアミノ酸配列をコードする核酸を含んでなる医薬の製造のための使用、が提供される。

X 1 - Y - X 2 - D - D - X 3

(前記配列中、

X 1 = 少なくとも 1 個のいずれかのアミノ酸、

Y = チロシン、

X 2 = バリン、イソロイシンおよびロイシンからなる群より選択される 1 個のアミノ酸、

D = アスパラギン酸、および

X 3 = 少なくとも 1 個のいずれかの付加的アミノ酸) 。

【0008】

【発明の具体的説明】

本発明の医薬は、特に変異型 H I V ウィルスに感染した細胞を破壊する細胞傷害性 T 細胞を誘導する。驚くことに本発明の配列は H L A - A 2 分子に結合でき

る T 細胞エピトープを形成し、それらに対して特異的な T 細胞受容体を誘導する。従って、 3 T C およびアバカビルによる治療において発生する H I V 変異体を特異的に標的化することができる。

【 0 0 0 9 】

一つ態様によれば、ペプチドは 9 個のアミノ酸からなっている。 X 1 は 4 または 5 個のいずれかの付加的アミノ酸の配列からなってもよく、 X 3 は 1 または 2 個のいずれかの付加的アミノ酸からなってもよい。かかるアミノ酸配列は特に変異型 H I V ウィルスに対して、また他のウィルス、例えば、変異型 B 型肝炎ウィルスに対しても免疫化するのに適している。

【 0 0 1 0 】

免疫化を目的とし、アミノ酸配列はペプチドまたはタンパク質の一成分であつてもよい。このペプチドまたはタンパク質は、リポペプチドまたはリポタンパク質、好ましくはトリバルミトイール - S - グリセリル - システイニル - セリル - セリンと結合させてもよい。目的に応じて、ペプチドまたはタンパク質をリポソームまたは I S C O M 内に含ませてもよい（免疫刺激複合体）。しかしながらこのペプチドまたはタンパク質は、好ましくは H I V ウィルス様粒子、 H I V g a g 粒子、または H B s 抗原からなる群より選択されるウイルスタンパク質と結合させてもよい。

【 0 0 1 1 】

このペプチドは可溶型のペプチド - H L A 複合体として、例えば、 H L A - A 2 四量体として存在することが好ましい。前記の複合体をリポソームと結合させてもよい。しかしながらこのペプチドは抗原を提示する細胞、好ましくは樹状細胞、マクロファージ、 B 細胞、または C D 4 + T 細胞の一部分であってもよい。これについてはペプチドの細胞への外生的付加、および細胞内で発現されるタンパク質の内生的プロセッシングの双方によって達成され得る。

【 0 0 1 2 】

本発明によれば、この医薬はインターロイキン - 2 および／または G M - C S F のようなサイトカイン、または多価ワクチンをさらに含んでもよい。それがア以下の配列の中からアミノ酸配列を選択することが特に有利であることが判って

いる。

【 0 0 1 3 】

IVIYQYVDDL (配列番号 1) 、 IVICQYVDDL (配列番号 2) 、
 IVIYQYIDDL (配列番号 3) 、 IVICQYIDDL (配列番号 4) 、
 ITIYQYVDDL (配列番号 5) 、 ITICQYVDDL (配列番号 6) 、
 ITIYQYIDDL (配列番号 7) 、 ITICQYIDDL (配列番号 8) 、
 IIIYQYVDDL (配列番号 9) 、 IIIICQYVDDL (配列番号 10) 、
 IIIYQYIDDL (配列番号 11) 、 IIIICQYIDDL (配列番号 12) 、
 MVIYQYVDDL (配列番号 13) 、 MVICQYVDDL (配列番号 14) 、
 MVIYQYIDDL (配列番号 15) 、 MVICQYIDDL (配列番号 16) 、
 VIYQYVDDL (配列番号 17) 、 VICQYVDDL (配列番号 18) 、
 VIYQYIDDL (配列番号 19) 、 VICQYIDDL (配列番号 20) 、
 LIYQYVDDL (配列番号 21) 、 LICQYVDDL (配列番号 22) 、
 LIYQYIDDL (配列番号 23) 、 LICQYIDDL (配列番号 24) 、
 TILQYVDDILL (配列番号 25) 、 TICQYVDDILL (配列番号 26) 、
 ILQYVDDIL (配列番号 27) 、 ILQYIDDIL (配列番号 28) 、
 TIVQYVDDILL (配列番号 29) 、 TIVQYIDDILL (配列番号 30) 、
 IVQYIDDIL (配列番号 31) 、 IVQYIDDIL (配列番号 32) 、
 ILVQYVDDIL (配列番号 33) 、 ILVQYIDDIL (配列番号 34) 、
 IIIQYVDDIL (配列番号 35) 、 IIIQYIDDIL (配列番号 36) 、
 ILIQYVDDIL (配列番号 37) 、 ILIQYIDDIL (配列番号 38) 、
 VLYQYVDDL (配列番号 39) 、 VLCQYVDDL (配列番号 40) 、
 VLYQYIDDL (配列番号 41) 、 VLCQYIDDL (配列番号 42) 、
 (前記配列中、 V = バリン、 I = イソロイシン、 L = ロイシン、 M = メチオニン、 C = システイン、 および Q = グルタミンである) 。

【 0 0 1 4 】

該核酸配列は D N A または R N A 配列であってもよい。核酸配列は プラスミド または ウイルスベクター、 好ましくは 組換えワクシニアウイルス もしくは 組換え アデノウイルス、 または レトロウイルスベクター、 の一成分であることができる

。また核酸配列はレトロウイルスベクターまたは弱毒レトロウイルスの一成分であってもよい。さらに核酸は細菌ベクター、好ましくは組換えBCGまたはサルモネラベクター、もしくは不活性化したウイルス、好ましくはHIVウイルスの一成分であってもよい。本発明によれば、医薬をT細胞またはT細胞受容体のex vivoにおける產生に使用してもよい。

【 0 0 1 5 】

本発明のさらなる目的は、ウイルス感染、好ましくは変異HIV、HIV-1、HIV-2、HTLV-IもしくはHTLV-IIウイルス、または変異型B型肝炎ウイルスに関連する感染の予防または治療のための本発明の医薬の使用にある。またウイルスは(-)-2'，3'–ジデオキシ-3'–チアシチジン[3TC(ラミブジン)]、(-)-(1S,4R)-4-[2-アミノ-6-(シクロプロピルアミノ)-9H-プリン-9-イル]-2-シクロペンテン-1-メタノール[アバカビル]、2'，3'–ジデオキシノシン[ジダノシン]、2'，3'–ジデオキシシチジン[ザルシタビン]、(-)-2'–デオキシ-5-フルオロ-3'–チアシチジン[FTC]、に対して耐性の変異型ウイルスであってもよい。

【 0 0 1 6 】

本発明の医薬の効力については例えば、試験結果のグラフ表示によって説明される。本明細書では図1～4が示される。

【 0 0 1 7 】

【 実施例 】

図1では、ペプチドを1μg/mlの濃度で⁵ 1クロムで標識した自己EBV形質転換B細胞系統とともに1時間プレインキュベートした。エフェクター-標的比15:1でクローンETMV1を添加して4時間後、上清を回収し、遊離したクロム量に基づいて特異的溶解を算定した。p17-ペプチドKIRLRPGGKを対照として用いた。図1から推測できるように、ペプチドIVIYQYYVDL(配列番号1)、VIYQYVDDL(配列番号17)およびVIYQYIDDL(配列番号19)だけが認識され、それには逆転写酵素阻害剤に対する耐性変異が含まれている。野生型ペプチドVIYQYMDLは認識されなかつ

た。

【 0 0 1 8 】

図 2 に示される結果を得るため、本明細書に記載されるペプチドを⁵ ¹ クロムで標識した自己 E B V 形質転換 B 細胞系統とともに示された濃度で 1 時間プレインキュベートした。エフェクターー標的比 5 : 1 でクローン E T M V 1 を添加して 4 時間後、上清を回収し、遊離したクロム量に基づいて特異的溶解を算定した。

【 0 0 1 9 】

図 3 は、ペプチド V I Y Q Y V D D L (配列番号 17) の認識 (= R T 5 0 M / V) について示す。それは H L A - A 2 に限定される。示された結果はペプチドおよび対照ペプチドを⁵ ¹ クロムで標識した自己 E B V 形質転換 B 細胞系統、 H L A - A 2 適合、または H L A - A 2 陰性同種 B 細胞系統とともに 1 0 μ g / m l の濃度で 1 時間プレインキュベートすることにより得られた。エフェクターー標的比 5 : 1 でクローン E T M V 1 を添加して 4 時間後、上清を回収し、遊離したクロム量に基づいて特異的溶解を算定した。抗体の C D 8 への添加により、溶解が H L A クラス I に限定されることが判った。

【 0 0 2 0 】

図 4 に示された表は、クローン E B 3 による変異型ペプチドの認識について示す。この目的のため、示された濃度のペプチドを⁵ ¹ クロムで標識した自己 E B V 形質転換 B 細胞系統とともに 1 時間プレインキュベートした。エフェクターー標的比 8 : 1 または 1 0 : 1 でクローン E B 3 を添加して 5 時間後、上清を回収し、遊離したクロム量に基づいて特異的溶解を算定した。このクローンは非変異野生型 H I V 配列は認識するが、本発明の配列は認識しない。本発明の配列が新規な C T L エピトープであることが示される。

【 0 0 2 1 】

【配列表】

SEQUENZPROTOKOLL

<110> Glaxo Group Ltd.

5 Harrer Dr., Thomas

<120> Arzneimittel zur Induktion zytotoxischer T-Zellen

<130> 77673dm3

<140>

<141>

10 <150> DE 19814925.5

<151> 1998-04-03

<160> 42

<170> PatentIn Vers. 2.0

<210> 1

15 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 1

Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 2

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 2

Ile Val Ile Cys Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 3

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 3

Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 4

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 4

Ile Val Ile Cys Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 5

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 5

Ile Thr Ile Tyr Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1 5 10

<210> 6

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 6

Ile Thr Ile Cys Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1 5 10

<210> 7

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 7

Ile Thr Ile Tyr Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 8

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 8

Ile Thr Ile Cys Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 9

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 9

Ile Ile Ile Tyr Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 10

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 10

Ile Ile Ile Cys Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 11

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 11

Ile Ile Ile Tyr Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 12

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 12

Ile Ile Ile Cys Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 13

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 13

Met Val Ile Tyr Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 14

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 14

Met Val Ile Cys Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 15

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 15

Met Val Ile Tyr Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 16

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 16

Met Val Ile Cys Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

10

<210> 17

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 17

Val Ile Tyr Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1

5

<210> 18

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 18

Val Ile Cys Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1

5

<210> 19

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 19

Val Ile Tyr Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

5 <210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

10 <223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 20

Val Ile Cys Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

<210> 21

15 <211> 9

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 21

Leu Ile Tyr Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1

5

<210> 22

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 22

Leu Ile Cys Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1

5

<210> 23

15 <211> 9

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 23

Leu Ile Tyr Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

<210> 24

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 24

Leu Ile Cys Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

<210> 25

15 <211> 11

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 25

Thr Ile Leu Gln Tyr Val Asp Asp Ile Leu Leu

1 5 10

<210> 26

5 <211> 11

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 26

Thr Ile Leu Gln Tyr Ile Asp Asp Ile Leu Leu

1 5 10

<210> 27

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 27

Ile Leu Gln Tyr Val Asp Asp Ile Leu
1 5

<210> 28

5 <211> 9
<212> PRT
<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 28

Ile Leu Gln Tyr Ile Asp Asp Ile Leu
1 5

<210> 29

<211> 11
15 <212> PRT
<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 29

Thr Ile Val Gln Tyr Val Asp Asp Ile Leu Leu

1

5

10

<210> 30

5 <211> 11

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 30

Thr Ile Val Gln Tyr Ile Asp Asp Ile Leu Leu

1

5

10

<210> 31

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 31

Ile Val Gln Tyr Ile Asp Asp Ile Leu

1

5

<210> 32

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10

<400> 32

Ile Val Gln Tyr Ile Asp Asp Ile Leu

1

5

<210> 33

15 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 33

Ile Leu Val Gln Tyr Val Asp Asp Ile Leu

1

5

10

<210> 34

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 34

Ile Leu Val Gln Tyr Ile Asp Asp Ile Leu

1

5

10

<210> 35

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 35

Ile Ile Ile Gln Tyr Val Asp Asp Ile Leu

1 5 10

<210> 36

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 36

Ile Ile Ile Gln Tyr Ile Asp Asp Ile Leu

1 5 10

<210> 37

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 37

Ile Leu Ile Gln Tyr Val Asp Asp Ile Leu
1 5 10

<210> 38

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 38

Ile Leu Ile Gln Tyr Ile Asp Asp Ile Leu
1 5 10

<210> 39

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 39

Val Leu Tyr Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1

5

<210> 40

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 40

Val Leu Cys Gln Tyr Val Asp Asp Leu

1

5

<210> 41

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

<400> 41

Val Leu Tyr Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

<210> 42

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Die Beschreibung von Künstliche Sequenz:Peptid

10 <400> 42

Val Leu Cys Gln Tyr Ile Asp Asp Leu

1

5

【図面の簡単な説明】

【図 1】

CTL クローン E TMV 1 による CTL エピトープ V I Y Q Y V D D L (配列番号 17) または V I Y Q Y I D D L (配列番号 19) の認識および同クローンによる前記 CTL エピトープ V I Y Q Y M D D L の非認識を示す図である。

【図 2】

ペプチド V I Y Q Y V D D L (配列番号 17) および V I Y Q Y I D D L (配列番号 19) の滴定中の E TMV 1 クローンの特異的溶解を示す図である。

【図 3】

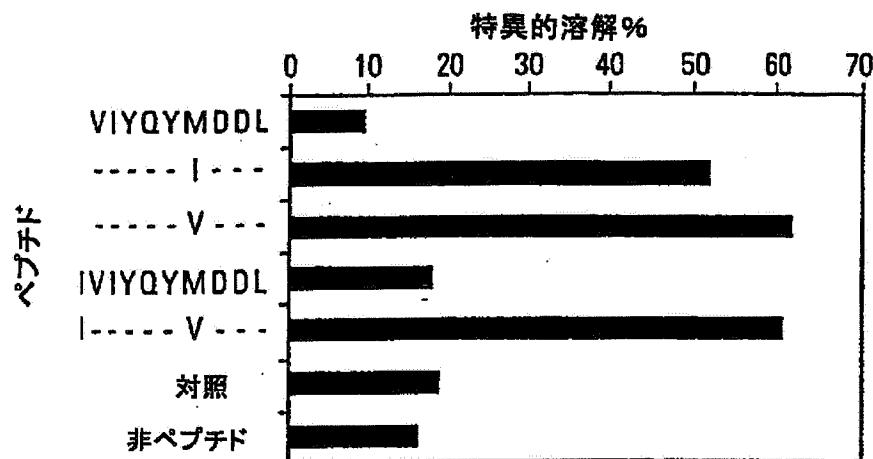
ペプチド V I Y Q Y V D D L (配列番号 17) の認識を示す図である。

【図 4】

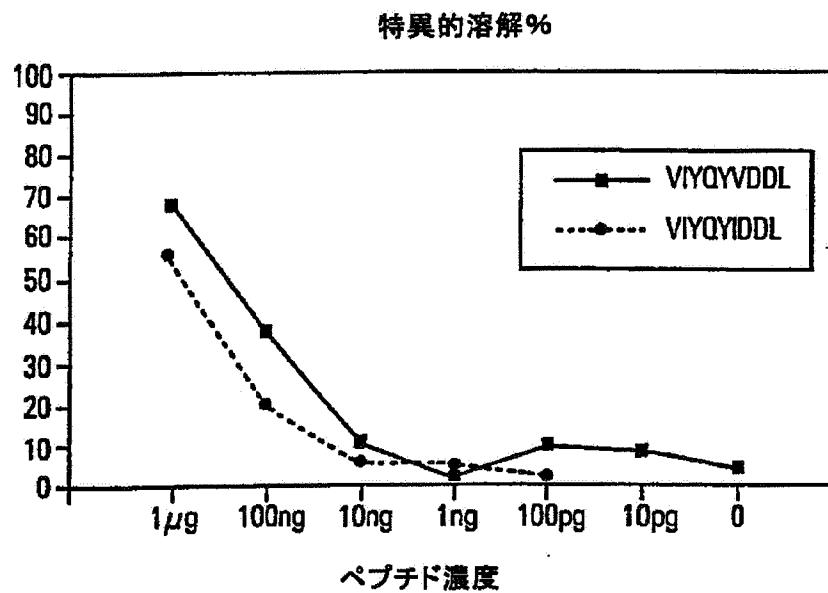
野生型配列 V I Y Q Y M D D L を認識する CTL クローン E B 3 によるペプチド V I Y Q Y V D D L (配列番号 17) および V I Y Q Y I D D L (配列番号 1

9) の非認識を示す図である。

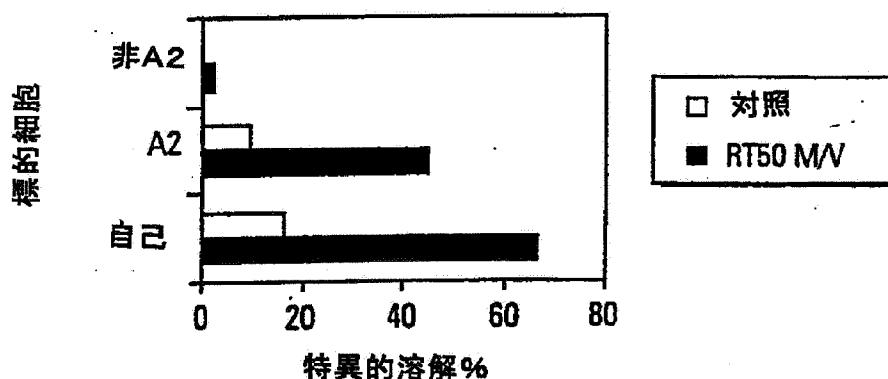
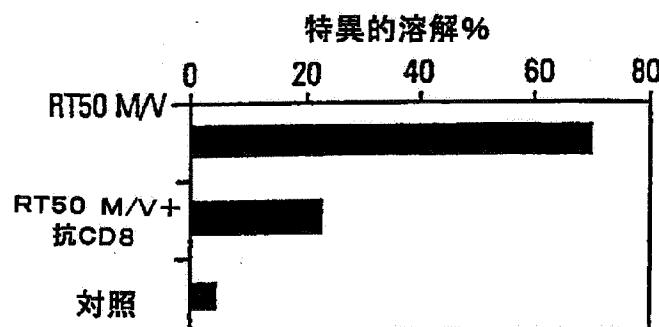
【図 1】



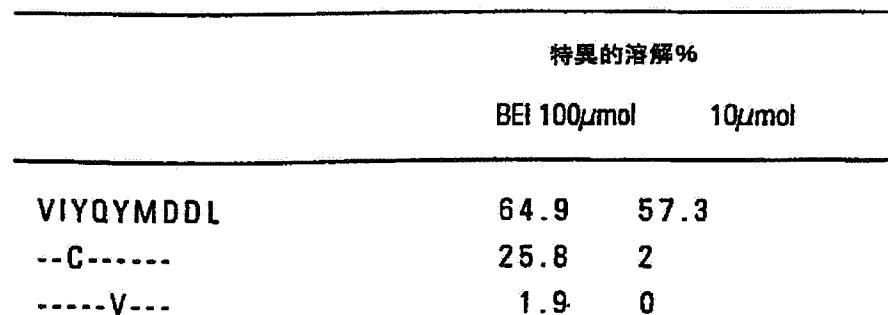
【図 2】



【図3】



【図4】



[国際調査報告]

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

					International Application No PCT/EP 99/02249									
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 C12N15/49 C12N15/54 C07K14/16 C12N9/12 A61K39/21 C12N15/63														
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC														
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 C12N C07K A61K														
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched														
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)														
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">TANIGAKI, NOBUYUKI ET AL: "The peptide binding specificity of HLA-B27 subtypes" IMMUNOGENETICS (1994), 40(3), 192-8 , XP002111887 page 195, right-hand column, last paragraph - page 197, right-hand column, last paragraph; table 2</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-6,13</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">KOWALSKI, HEINRICH ET AL: "Patr-A and B, the orthologs of HLA-A and B, present hepatitis C virus epitopes to CD8+ cytotoxic T cells from two chronically infected chimpanzees" J. EXP. MED. (1995), 183(4), 1761-75 , XP002111888 figure 3</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1,6 -/-</td> </tr> </tbody> </table>						Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	TANIGAKI, NOBUYUKI ET AL: "The peptide binding specificity of HLA-B27 subtypes" IMMUNOGENETICS (1994), 40(3), 192-8 , XP002111887 page 195, right-hand column, last paragraph - page 197, right-hand column, last paragraph; table 2	1-6,13	X	KOWALSKI, HEINRICH ET AL: "Patr-A and B, the orthologs of HLA-A and B, present hepatitis C virus epitopes to CD8+ cytotoxic T cells from two chronically infected chimpanzees" J. EXP. MED. (1995), 183(4), 1761-75 , XP002111888 figure 3	1,6 -/-
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
X	TANIGAKI, NOBUYUKI ET AL: "The peptide binding specificity of HLA-B27 subtypes" IMMUNOGENETICS (1994), 40(3), 192-8 , XP002111887 page 195, right-hand column, last paragraph - page 197, right-hand column, last paragraph; table 2	1-6,13												
X	KOWALSKI, HEINRICH ET AL: "Patr-A and B, the orthologs of HLA-A and B, present hepatitis C virus epitopes to CD8+ cytotoxic T cells from two chronically infected chimpanzees" J. EXP. MED. (1995), 183(4), 1761-75 , XP002111888 figure 3	1,6 -/-												
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.			<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.											
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the International filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed														
Date of the actual completion of the International search			Date of mailing of the International search report											
16 August 1999			01/09/1999											
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-0040, Fax. (+31-70) 340-3016			Authorized officer Fuhr, C											

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No	
PCT/EP 99/02249	

C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 97 14436 A (UNIV DUKE) 24 April 1997 (1997-04-24) page 28, paragraph 2; table IX	1,5,6, 19-21,24
A	WO 94 28871 A (ENDOCON INC) 22 December 1994 (1994-12-22) claims; table I	1,5,6, 19-21,24
A	HARRIER, ELLEN ET AL: "Recognition of the highly conserved YMDD region in the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase by HLA-A2-restricted cytotoxic T lymphocytes from an asymptomatic long-term nonprogressor" J. INFECT. DIS. (1996), 173(2), 476-9 , XP002112244 page 478, right-hand column, paragraph 1 - page 479, right-hand column, paragraph 1	1

1

Form PCT/ISA22(0 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP 99/02249

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 24-26
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Observation: Although Claims Nos. 24-26 relate to a method for treatment of the human/animal body, the search was carried out and was based on the cited effects of the compound/composition.

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 99/02249

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9714436 A	24-04-1997	AU 7465696 A EP 0868196 A NO 961680 A	07-05-1997 07-10-1998 29-10-1996
WO 9428871 A	22-12-1994	AU 7101294 A	03-01-1995

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	マーク(参考)
C 0 7 K 14/16		C 1 2 N 15/00	Z N A A
(81) 指定国 E P (A T, B E, C H, C Y, D E, D K, E S, F I, F R, G B, G R, I E, I T, L U, M C, N L, P T, S E), O A (B F, B J, C F, C G, C I, C M, G A, G N, G W, M L, M R, N E, S N, T D, T G), A P (G H, G M, K E, L S, M W, S D, S L, S Z, U G, Z W), E A (A M, A Z, B Y, K G, K Z, M D, R U, T J, T M), A E, A L, A M, A T, A U, A Z, B A, B B, B G, B R, B Y, C A, C H, C N, C U, C Z, D E, D K, E E, E S, F I, G B, G D, G E, G H, G M, H R, H U, I D, I L, I N, I S, J P, K E, K G, K P, K R, K Z, L C, L K, L R, L S, L T, L U, L V, M D, M G, M K, M N, M W, M X, N O, N Z, P L, P T, R O, R U, S D, S E, S G, S I, S K, S L, T J, T M, T R, T T, U A, U G, U S, U Z, V N, Y U, Z A, Z W			
(71) 出願人 Glaxo Wellcome Hous e, Berkeley Avenue G reenford, Middlesex UB6 0NN, Great Brita in			
(72) 発明者 トーマス、ハラー ドイツ連邦共和国エアランゲン、シュタイ ンネック、9			
F ターム(参考) 4B024 AA01 BA32 CA05 DA02 EA02 EA04 GA11 HA01 HA15 HA17 4C085 AA03 AA04 AA21 BA68 BA69 BA90 CC08 DD86 FF13 FF21 4H045 AA10 BA14 BA41 BA55 CA42 DA86 EA29 EA31			